

TOWNSEND  
and  
TOWNSEND  
and  
CREW  
LLC

DIALOG® WORLD PATENT INDEX SEARCH FOR  
ENGLISH ABSTRACT OF DE 10039651  
AND  
ENGLISH ABSTRACT OF JP 2001-183340  
COMPLETED 04/10/02 FOR 19553-003810  
BY BRAD J. LOOS

File 351:Derwent WPI 1963-2001/UD,UM &UP=200222

(c) 2002 Derwent Info Ltd

\*File 351: Please see HELP NEWS 351 for details about U.S. provisional applications.

Set Items Description

?s pn=de 10039651  
S1 1 PN=DE 10039651  
?t s1/3,ab/all

1/3,AB/1  
DIALOG(R)File 351:Derwent WPI  
(c) 2002 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

013898267  
WPI Acc No: 2001-382480/ 200141  
XRAM Acc No: C01-117308

Serpentine electrophoresis channel designed to overcome dispersive race track effect, has straight sections connected by curves including smaller bends

Patent Assignee: AGILENT TECHNOLOGIES INC (AGIL-N)

Inventor: BRENNAN R A; GORDON G B

Number of Countries: 002 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
DE 10039651	A1	20010613	DE 1039651	A	20000814	200141 B
JP 2001183340	A	20010706	JP 2000357345	A	20001124	200144

Priority Applications (No Type Date): US 99448259 A 19991124

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
DE 10039651	A1	13	B01D-057/02		
JP 2001183340	A	9	G01N-027/447		

Abstract (Basic): DE 10039651 A1

Abstract (Basic):

NOVELTY - The electrophoresis channel (AP1) separates components longitudinally. Its straight sections are connected by curves (30) with inner and outer edges and constrictions (42).

DETAILED DESCRIPTION - Preferred features: The minimal width of the channel is between a quarter and three quarters of the upstream and downstream widths. The inner curved wall has a length exceeding that of a reference curve as parallel as possible to the outer curved wall,

TOWNSEND  
and  
TOWNSEND  
and  
CREW  
LLP

DIALOG® WORLD PATENT INDEX SEARCH FOR  
ENGLISH ABSTRACT OF DE 10039651  
AND  
ENGLISH ABSTRACT OF JP 2001-183340  
COMPLETED 04/10/02 FOR 19553-003810  
BY BRAD J. LOOS

extending from the upstream inner end point to the downstream inner end point of the curve. The outer curved wall has a length differing from channel length, the actual difference being the same as the length of the outer curved wall less the length of the inner curved wall. The channel defines a reference difference which is the same as the length of the outer curved wall less the reference length. The actual difference is less than the reference difference. The actual difference is less than half the reference difference. The inner curved wall has at least one bend. It has more bends than the outer curved wall. The inner curved wall has at least two bends in its curvature., the outer curved wall has none. A power supply provides an electric field along the channel.

USE - An electrophoresis system for analytical chemistry, with e.g. medicinal, environmental and forensic applications.

ADVANTAGE - A long micro-capillary for electrophoretic separation may be designed in serpentine configuration for compactness. The race track effect causes undesirable dispersion of species, since ions of the same type and migration velocity have a greater distance to cover around the outside of a curve, than around the inside of the curve. The new design has specially-shaped curves to minimize or eliminate the race track effect, whilst providing a long serpentine for optimum separation.

DESCRIPTION OF DRAWING(S) - A single curve connecting straight sections, and the general appearance of the serpentine, are shown schematically.

electrophoresis channel (AP1)  
curves (30)  
constrictions (42)  
pp; 13 DwgNo 1/7

⑯ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑯ ⑫ Offenlegungsschrift  
⑯ ⑯ DE 100 39 651 A 1

⑯ Int. Cl. 7:  
B 01 D 57/02

⑯ ⑯ Aktenzeichen: 100 39 651.8  
⑯ ⑯ Anmeldetag: 14. 8. 2000  
⑯ ⑯ Offenlegungstag: 13. 6. 2001

DE 100 39 651 A 1

⑯ ⑯ Unionspriorität:  
448259 24. 11. 1999 US  
⑯ ⑯ Anmelder:  
Agilent Technologies, Inc. (n.d.Ges.d.Staates  
Delaware), Palo Alto, Calif., US  
⑯ ⑯ Vertreter:  
Schoppe, Zimmermann, Stöckeler & Zinkler, 81479  
München

⑯ ⑯ Erfinder:  
Gordon, Gary B., Saratoga, Calif., US; Brennan,  
Reid A., San Francisco, Calif., US

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑯ ⑯ Serpentinenförmiger Elektrophoresekanal mit reduziertem Rennbahneffekt

⑯ ⑯ Ein Elektrophoresesystem umfaßt einen planaren serpentinenförmigen mikroanalytischen kapillaren Elektrophoresekanal und eine Leistungsversorgung zum Liefern eines elektrischen Felds entlang des Kanals. Der Kanal umfaßt gerade Abschnitte und 180°-Krümmungen, die benachbarte gerade Abschnitte verbinden. Jede Krümmung weist eine innere Krümmungswand und eine äußere Krümmungswand auf. Jede innere Krümmungswand weist in einer Reihenfolge einen stromaufwärts liegenden Endpunkt, einen ersten 45°-Linksbogen, einen ersten 80°-Rechtsbogen, einen zweiten 45°-Linksbogen, einen geraden Abschnitt, einen dritten 45°-Linksbogen, einen zweiten 180°-Rechtsbogen, einen fünften 45°-Linksbogen und einen stromabwärts liegenden Endpunkt auf. Folglich umfaßt die innere Krümmungswand vier Krümmungsbiegungen. Jede äußere Wand weist zwei Viertelkreisbögen und keine Biegungen auf. Diese Wandgeometrie definiert zwei Verschmälerungen an Krümmungsspitzen. Die Verengungen reduzieren den Unterschied zwischen den unterschiedlichen Wanderungs- "Bahnen", wodurch der Rennbahneffekt reduziert wird. Dieser Unterschied wird weiter durch den gebogenen Charakter der inneren Wand reduziert.

DE 100 39 651 A 1

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf die analytische Chemie und insbesondere auf Elektrophoresesysteme. Ein Hauptziel der Erfindung besteht darin, die Probenkomponentendispersion aufgrund eines "Rennbahneffekts" zu lindern, der typischerweise die serpentinösen Elektrophoresekanäle belastet.

Ein großer Teil des modernen Fortschritts in der medizinischen Wissenschaft, der Umweltwissenschaft, der forensischen Wissenschaft bzw. der gerichtsmedizinischen Wissenschaft und anderen Wissenschaften ist den Fortschritten in der analytischen Chemie zuzuordnen. Die analytische Chemie ist oftmals mit dem Trennen der beteiligten Komponenten einer Probe verbunden. Die Elektrophorese ist eines der vielen Verfahren, die Komponenten trennen, indem dieselben mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten bzw. Raten entlang eines Trennungskanals bewegt werden. Bei dem Fall der Elektrophorese wandern geladene Komponenten entlang des Kanals unter dem Einfluß eines elektrischen Felds. Die unterschiedlichen "elektrophoretischen Beweglichkeiten" der Probenkomponenten ergeben unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten, so daß sich die Komponenten trennen.

Von besonderem Interesse sind in jüngster Zeit mikroanalytische kapillare elektrophoretische Kanäle, die in Glas oder andere Substrate geätzt sind. Derartige Kanäle können sehr kompakt und unaufwendig sein. Um einen relativ langen Kanal (für eine effektivere Komponententrennung) auf einem kleinen Substrat (für eine größere Ausbeute und Herstellbarkeit) vorzusehen, werden derartige mikroanalytische Elektrophoresekanäle in einer Serpentiniform gebildet.

Die Serpentiniform umfaßt notwendigerweise eine Anzahl von Krümmungen. Typischerweise müssen sich Ionen, die sich nahe der äußeren Wand einer Krümmung bewegen, weiter bewegen, als Ionen, die sich nahe der inneren Wand der Krümmung bewegen. Der Ausdruck "Rennbahneffekt" erinnert an die gut bekannte Tatsache, daß die innerste Bahn einer Rennbahn die kürzeste Strecke um eine Krümmung bestimmt. Bei dem Fall der Elektrophorese führt der Unterschied der Bewegungsstrecken zwischen einer inneren Bahn und einer äußeren Bahn bei jeder Krümmung zu einer nicht erwünschten Dispersion von Ionen einer Probenkomponente.

Eric S. Nordman wendet sich in der internationalen Patentanmeldung Nr. PCT/US98/24202 diesem Problem mit komplementären Krümmungen zwischen jedem benachbarten Paar von geraden Kanalabschnitten zu, so daß der Rennbahneffekt, der der zweiten Krümmung zugeordnet ist, entgegengesetzt zu dem Rennbahneffekt der anderen Krümmung ist und mindestens teilweise den Rennbahneffekt der anderen Krümmung ausgleicht.

Es gibt mehrere Probleme des Entwurfs von Nordman für einen serpentinösen Kanal. Zunächst ist der Entwurf von Nordman nicht sehr kompakt. Die Doppelkurvenkrümmungen bzw. Doppelbiegungskrümmungen von Nordman erstrecken sich mehr quer zu der Ausrichtung der geraden Abschnitte als eine einfache halbkreisförmige Krümmung. Folglich müssen die geraden Kanalabschnitte von Nordman weiter beabstandet sein. Auf einer Basis pro Flächeneinheit führt eine größere Beabstandung zu weniger geraden Kanalabschnitten und folglich zu einem kürzeren Trennungsweg. Folglich kann der Entwurf von Nordman die Auflösungsleistung begrenzen.

Nordman verlangt zusätzlich einen erhöhten Querschnitt für mindestens eine der Krümmungen. Niedrigere axiale Gradienten sind dem größeren Querschnitt zugeordnet, so daß sich die Wanderung verlangsamt. Obwohl sich die Wan-

derung verlangsamt, ist dies nicht für die Diffusion der Fall. Daher führen die Regionen mit vergrößertem Querschnitt zu einer stärkeren Diffusion für eine gegebenen Trennung von Komponenten.

5 Nordman verdoppelt ferner die Anzahl der Krümmungen, was potentiell den kummulativen Rennbahneffekt verschlimmert. Obwohl im allgemeinen die Krümmungspaare einander ausgleichen, können dieselben kummulativ bzw. summierend für einen kleinen Prozentsatz der Ionen, die 10 ihre Position innerhalb des Kanalquerschnitts zwischen den Krümmungen ändern, beitragen.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, ein elektrophoretisches System zu schaffen, das einen Kanalentwurf aufweist, der die Quellen der Probenkomponentendispersion, einschließlich des Rennbahneffekts, minimiert, und dennoch lange effektive Kanallängen für einen 15 gegebenen Substratbereich bzw. eine gegebene Substratfläche liefert.

Diese Aufgabe wird durch ein elektrophoretisches System gemäß Anspruch 1 gelöst.

Die vorliegende Erfindung sieht einen elektrophoretischen Kanal vor, der den Unterschied der Länge zwischen den inneren und äußeren Wänden einer Krümmung reduziert, um den Rennbahneffekt zu reduzieren. Der Kanal 25 weist wechselnde Geraden und Krümmungen auf. Entlang jeder Krümmung befindet sich eine schmale Region, die die Wände der Krümmung näher zueinander bringt, um die Verschiedenheit ihrer Länge zu reduzieren. Außerdem kann die innere Krümmungswand relativ zu der äußeren Krümmungswand verlängert werden, um weiter den Rennbahneffekt zu reduzieren. Die innere Krümmungswand kann verlängert werden, indem dieselbe einer komplexeren Kurve, z. B. mit mehr Biegungen, als die äußere Krümmungswand folgt. Eine Leistungsversorgung kann ein elektrisches Feld 30 liefern, das sich längs bzw. longitudinal entlang des Kanals erstreckt.

Jede Krümmung erstreckt sich von einer "stromaufwärts liegenden" Geraden zu einer "stromabwärts liegenden" Geraden; hierin sind "stromaufwärts liegend" und "stromabwärts liegend" relativ zu der Krümmung und zu der Probenkomponentenwanderungsrichtung definiert. Die Krümmung umfaßt eine innere Krümmungswand und eine äußere Krümmungswand. Die innere Krümmungswand erstreckt sich von einem stromaufwärts liegenden inneren Endpunkt 40 zu einem stromabwärts liegenden inneren Endpunkt über eine Länge der inneren Krümmungswand. Ähnlicherweise erstreckt sich die äußere Krümmungswand von einem stromaufwärts liegenden äußeren Endpunkt zu einem stromabwärts liegenden äußeren Endpunkt über eine Länge der äußeren Krümmungswand.

Allgemein ist die Kanalbreite an den stromaufwärts liegenden Endpunkten (die eine gemeinsame longitudinale Position bzw. Längsposition besitzen) gleich der Kanalbreite an den stromabwärts liegenden Endpunkten (die eine gemeinsame longitudinale Position besitzen) und entlang der Geraden. Die maximale Kanalbreite der Krümmung tritt vorzugsweise an den Endpunkten derselben auf. Die Erfindung fordert, daß die Kanalbreite sich auf ein Minimum (mindestens einmal) schmälert, und sich dann wiederum 55 entlang der Krümmung ausdehnt. Das Minimum liegt vorzugsweise zwischen einem Viertel und drei Viertel der Kanalbreite in den Geraden.

Jede Krümmung definiert eine Referenz bzw. Bezugs-Kurve, die sich so parallel wie möglich zu der äußeren Krümmungswand von dem stromaufwärts liegenden inneren Endpunkt zu dem stromabwärts liegenden inneren Endpunkt erstreckt. Diese Kurve weist eine Referenz bzw. Bezugslänge auf. Die Länge der inneren Krümmungswand ist 60

größer als die Referenzlänge. Mit anderen Worten sollte der tatsächliche Unterschied zwischen der äußeren Krümmungslänge und der inneren Krümmungslänge kleiner als der "Referenz"-Unterschied zwischen der äußeren Krümmungslänge und der Referenzlänge sein. Der tatsächliche Unterschied ist vorzugsweise kleiner als die Hälfte des Referenzunterschieds.

Die Kurve, die durch die innere Krümmungswand verfolgt wird, ist vorzugsweise komplexer als die Kurven, die durch die äußere Krümmungswand (und folglich durch die Referenzkurve) verfolgt werden. Dieser Unterschied der Komplexität ermöglicht es, daß der Unterschied der Längen der inneren und äußeren Krümmungswände so klein wie gewünscht eingestellt werden kann. Die innere Krümmungswand umfaßt allgemein mindestens eine Kurvenbiegung und weist allgemeiner mehr Kurvenbiegungen als die äußere Wand auf. Eine Krümmung mit einer lokalen Minimalbreite kann zwei Kurvenbiegungen in der inneren Krümmungswand und null Kurvenbiegungen in der äußeren Wand aufweisen. Eine Biegung mit zwei lokalen Minimalbreiten kann eine innere Krümmungswand mit vier Kurvenbiegungen aufweisen, während die äußere Krümmungswand keine Biegung aufweist.

Bei den bevorzugten Ausführungsbeispielen entspricht jede Biegung der inneren Krümmungswand einer Kompensation bzw. einem Ausgleich des Rennbahneffekts. Bei zwei Biegungen wird die Kompensation des Rennbahneffekts zweimal um die Krümmung beendet. Bei vier Biegungen tritt die Kompensation viermal um die bzw. entlang der Krümmung auf. Bei einem bevorzugten Ausführungsbeispiel wird eine Kompensation bei jeder Netto-Drehung von 45° einer Krümmung erreicht. Folglich besitzen Moleküle eine geringe Gelegenheit, die Bahnen vor der Kompensation einer Rennbahn-basierten Dispersion zu ändern. Dies steht im Gegensatz zu Nordman, bei dem Moleküle eine 180°-Drehung beenden, bevor eine Kompensation begonnen wird.

Die vorliegende Erfindung reduziert den Rennbahneffekt, indem die Kanalbreite in den Krümmungen verschmäler wird. Der Bahnlängenunterschied wird weiter reduziert, indem eine gebogene innere Krümmungswand verwendet wird. Die Rolle von Feldgradienten beim Reduzieren des Rennbahneffekts ist im folgenden detailliert beschrieben. Bei Ausführungsbeispielen, bei denen die maximale Kanalbreite einer Krümmung an den Endpunkten derselben liegt, wird das Problem der Dispersion von Nordman aufgrund einer übermäßigen Krümmungsbreite vermieden.

Insgesamt können diese Faktoren den Rennbahneffekt in einem serpentinenförmigen Elektrophoresekanal reduzieren oder eliminieren. Folglich können aufwandseffektivere und kompaktere Elektrophoresekanäle die Auflösung von geringen Elektrophoresekanälen erreichen.

Bevorzugte Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung werden nachfolgend unter Bezugnahme auf die beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung eines Elektrophoresystems mit einem serpentinenförmigen Elektrophoresekanal gemäß der vorliegenden Erfindung; die Darstellung umfaßt ein Detail einer Krümmung des Kanals;

Fig. 2 eine schematische Darstellung einer Krümmung des Kanals von Fig. 1, die geometrische Merkmale zeigt;

Fig. 3 ein schematisches Tiefenprofil entlang der Linie A-A von Fig. 2;

Fig. 4 eine schematische Darstellung der Krümmung von Fig. 2 mit Feldlinien und überlagerten Äquipotentiallinien;

Fig. 5 eine schematische Darstellung der in Fig. 4 gezeigten Krümmung, jedoch mit überlagerten Bandpositionen;

Fig. 6 eine schematische Darstellung eines zweiten Kanals,

der eine größere Probenkomponententrennung vor sieht; und

Fig. 7 eine schematische Darstellung einer zweiten Krümmungsgeometrie gemäß der vorliegenden Erfindung.

5 Gemäß der vorliegenden Erfindung weist ein mikroanalytisches kapillares Chemozonelektrophoresesystem AP1 einen planaren serpentinenförmigen Elektrophoresekanal 10 und eine Leistungsversorgung 12 auf. Der serpentinenförmige Kanal 10 ist photolithographisch als ein Graben in einem Glassubstrat 14 gebildet. Der Kanal 10 ist lateral durch Kanal-(Graben-) Wände 16 und 18 begrenzt.

10 Der serpentinenförmige Kanal 10 kann begriffsmäßig in einen Einlaßabschnitt 20, einen Auslaßabschnitt 22, eine Serie von "nach oben gerichteten" geraden Abschnitten 24, in denen die Probenkomponenten in einer Richtung (in Fig. 1 nach oben) wandern, eine Serie von "nach unten gerichteten" geraden Abschnitten 26, in denen die Probenkomponenten in der entgegengesetzten Richtung (in Fig. 1 nach unten) wandern, eine Serie von Uhrzeigersinnkrümmungen bzw. Rechtskrümmungen 30 (aus der Perspektive von Fig. 1) und eine Serie von Gegenuhrzeigersinnkrümmungen bzw. Linkskrümmungen 32 eingeteilt sein. Jede Rechtskrümmung 30 verbindet eine stromaufwärts (von der Krümmung) liegende nach oben gerichtete Gerade 24 mit einer stromabwärts liegenden nach unten gerichteten Gerade 26. Jede Linkskrümmung 32 verbindet eine stromaufwärts liegende nach unten gerichtete Gerade 26 mit einer stromabwärts liegenden nach oben gerichteten Geraden 24. Die Krümmungen 30 und 32 ändern die Wanderungsrichtung um 180° zwischen benachbarten Geraden, so daß eine Probenwanderung in benachbarten Geraden antiparallel ist.

15 Zu Beginn eines Probenlaufs wird der Kanal 10 mit einem Puffer gefüllt, ein Stopfen einer zu analysierenden Probe wird an einem Einlaßende 34 des Kanals 10 eingeführt, und die Leistungsversorgung 12 liefert ein elektrisches Feld zwischen dem Einlaßende 34 und einem Auslaßende 36 des Kanals 10. Das elektrische Feld bewirkt, daß die Probe und der Puffer longitudinal bzw. längs entlang des Kanals 10 hin zu und aus dem Auslaßende 36 wandern. Ein zusätzlicher Puffer wird zugeführt, um das Volumen zu füllen, das durch die wandernde Probe und den Puffer freigemacht wird. Die Probenkomponenten beginnen sich in Bänder gemäß ihrer elektrophoretischen Beweglichkeiten zu trennen.

20 Ein Band für eine Probenkomponente ist bei Fortschrittspositionen B01-B21 entlang einer der Uhrzeigersinnkrümmungen bzw. Rechtskrümmungen 30, wie es detailliert in Fig. 1 gezeigt ist, gezeigt. Da alle Krümmungen 30 und 32 isomorph bzw. gleichgestaltig sind, ist die folgende Beschreibung, die sich auf eine Krümmung 30 bezieht, mit offensichtlichen Modifikationen für die Linkskrümmungen sowie auf andere Krümmungen des Kanals 10 anwendbar.

25 Die Krümmung 30 erstreckt sich von einer stromaufwärts (relativ zu der Krümmung 30) liegenden Geraden 24 zu einer stromabwärts (relativ zu der Krümmung 30) liegenden Geraden 26, wie es in Fig. 2 gezeigt ist. Die Geraden 24 und 26 besitzen die gleiche konstante Breite. Die Krümmung 30 ist dort, wo dieselbe an die Geraden 24 und 26 angrenzt, und in ihrem Mittelpunkt 40 so breit wie die Krümmungen 24 und 26. Die Krümmung 30 verschmäler sich an ihren Ecken 42 und 44, so daß die Kanalbreite an den Ecken etwa 1/2 der Kanalbreite in den Geraden 24 und 26 ist. Das Verschmäler reduziert den Unterschied der Kanallängen an den Ecken, wodurch der Rennbahneffekt reduziert wird. Die vorliegende Erfindung sieht jedoch eine weitere Reduktion und sogar eine effektive Eliminierung des Rennbahneffekts wie folgt vor.

30 Die Tiefe des Kanals 10 wird, wie es in dem Tiefenprofil von Fig. 3 gezeigt ist, variiert, so daß die Kanaltiefe umge-

kehrt zu der Kanalbreite in der Krümmung 30 variiert. Diese Korrelation reduziert Variationen des Querschnittsbereichs, um elektrische Feldgradienten zu reduzieren, und um eine Probenanhäufung an Ecken 42 und 44 der Krümmung 30 zu vermeiden.

Die Krümmung 30 weist eine innere Krümmungswand 46 und eine äußere Krümmungswand 48, wie es in Fig. 2 gezeigt ist, auf. Die innere Krümmungswand 46 ist ein Abschnitt der Kanalwand 16, und die äußere Krümmungswand 48 ist ein Abschnitt der Kanalwand 18, wie es in Fig. 2 gezeigt ist. Allgemein sind die inneren Krümmungswände der Rechtskrümmungen 30 (die gemeinsam in Fig. 2 gezeigt sind) Abschnitte der Kanalwand 16, während die äußeren Wände dieser Krümmungen 30 Abschnitte der Kanalwand 18 sind. Diese Beziehung der Krümmungswände zu den Kanalwänden wird für Linkskrümmungen 32 umgekehrt (d. h. die innere Krümmungswand einer Krümmung 32 ist ein Abschnitt der Kanalwand 18, und die äußere Krümmungswand einer Krümmung 32 ist ein Abschnitt der Kanalwand 16).

Die innere Krümmungswand 46 weist in einer Reihenfolge, und wie es am besten in Fig. 2 sichtbar ist, einen stromaufwärts liegenden Endpunkt 50, einen 45° links gebogenen Abschnitt 52, einen ersten Biegungspunkt 54, einen 180° rechts gebogenen Abschnitt 56, einen zweiten Biegungspunkt 58, eine 45°-Linkscurve 60, einen geraden Abschnitt 62, einen 45° links gebogenen Abschnitt 64, einen dritten Biegungspunkt 66, einen 180° rechts gebogenen Abschnitt 68, einen fünften Biegungspunkt 70, einen 45° links gebogenen Abschnitt 72 und einen stromabwärts liegenden Endpunkt 74 auf. Insgesamt gibt es vier Kurvenbiegungen 54, 58, 66 und 70 von links (entgegen dem Uhrzeigersinn) zu rechts (im Uhrzeigersinn) oder von rechts (im Uhrzeigersinn) zu links (entgegen dem Uhrzeigersinn). (Die Kurven, die in einer Biegung umfaßt sind, können sich allgemeiner in einem Biegungspunkt treffen, oder dieselben können durch ein gerades Segment getrennt sein.) Der gebogene Charakter der inneren Krümmungswand 46 ermöglicht es, daß der Längenunterschied zwischen denselben und der äußeren Krümmungswand über das hinaus reduziert wird, was durch die Eckenverschmälerungen alleine erreicht wird.

Die äußere Krümmungswand 48 weist einen stromaufwärts liegenden äußeren Endpunkt 76, einen stromaufwärts liegenden geraden Abschnitt 78, einen 90°-Rechts-Kreisbogen 80, einen geraden Zwischenabschnitt 82, einen zweiten 90°-Rechts-Kreisbogen 84, einen stromabwärts liegenden geraden Abschnitt 86 und einen stromabwärts liegenden äußeren Endpunkt 88 auf. Alle Abschnitte der äußeren Krümmungswand 48 sind entweder gerade oder rechts gebogen, und es gibt keine Krümmungsbiegungen.

Die stromaufwärts liegenden Endpunkte 50 und 76 weisen eine gemeinsame longitudinale Position entlang des Kanals 10, wie es auch für die stromabwärts liegenden Endpunkte 74 und 88 der Fall ist, auf. Die Beabstandung zwischen den Endpunkten 50 und 76 ist gleich der Beabstandung zwischen den Endpunkten 74 und 88, die gleich der Kanalbreite entlang der Geraden 24 und 26 ist. Zusätzlich ist die Kanalbreite in dem Krümmungsmittelpunkt 40 gleich der Kanalbreite entlang der Geraden 24 und 26.

Die Bögen 80 und 84 weisen die gleichen Mittelpunkte wie die 180°-Kurven 56 bzw. 68 der inneren Krümmungswand 46 auf. Die Radien der äußeren Krümmungsbögen 80 und 84 sind doppelt so groß wie die Radien der 180°-Kurven 56 und 68 der inneren Krümmungswand 46. Dementsprechend sind die minimalen Kanalbreiten, die an den Ecken 40 und 42 auftreten, jeweils z. B. die Hälfte der maximalen Kanalbreiten zwischen beispielsweise den Endpunkten 50 und 76 und zwischen den Endpunkten 74 und 88.

Der Effekt der Biegungen der inneren Krümmungswand

wird verständlich, wenn die innere Krümmungswand 46 mit einer Referenzkurve 90 verglichen wird. Die Referenzkurve 90 weist die gleichen Endpunkte 50 und 74 wie die innere Krümmungswand 46 auf, dieselbe erstreckt sich jedoch so parallel wie möglich zu der äußeren Krümmungswand 48. "So parallel wie möglich" bedeutet dort parallel, wo die Beabstandung zwischen den stromaufwärts liegenden Enden 50, 76 der inneren Krümmungswand und der äußeren Krümmungswand gleich der Beabstandung zwischen den stromabwärts liegenden Enden 74, 88 derselben ist. Dort wo die Endpunktbeabstandungen nicht gleich sind, ist ein wahrer Parallelismus nicht möglich. Bei solchen Fällen bedeutet "so parallel wie möglich", daß der Abstand zwischen den entsprechenden Punkten der inneren Krümmungswand und der äußeren Krümmungswand monoton, vorzugsweise linear, mit der longitudinalen Position entlang der Wände variiert. Für Erklärungszwecke ist die Rundung an den Ecken der Kurven 90 in Fig. 2 übertrieben dargestellt.

Es sei bemerkt, daß die Länge der inneren Krümmungswand 46 wesentlich größer als die Länge der Referenzkurve 90 ist. Folglich liegt die Länge der inneren Krümmungswand 46 wesentlich näher an der Länge der äußeren Krümmungswand 48 als die Länge der Referenzkurve 90. Hierin ist der Unterschied zwischen der Länge der äußeren Krümmungswand 48 und der Länge der inneren Krümmungswand 46 der "tatsächliche" Unterschied für die Krümmung 30; der Unterschied zwischen der Länge der äußeren Krümmungswand 48 und der Referenzkurve 90 ist die "Referenzdiskrepanz" bzw. der Referenzunterschied der Krümmung 30. Für die Krümmung 30 ist der tatsächliche Unterschied kleiner als die Hälfte des Referenzunterschieds. Folglich reduziert die vorliegende Erfindung den Rennbahneffekt nicht nur dadurch, daß dieselbe die Kanalwände an den Krümmungen näher zueinander bringt, sondern ferner dadurch, daß dieselbe weiter den tatsächlichen Unterschied zwischen den Krümmungslängen reduziert, indem die innere Krümmungswand gebogen wird.

Die innere Krümmungswand 46 weist mehr Kurvenbiegungen als die äußere Krümmungswand 48 auf. In diesem Sinne ist die erste komplexer als die letztere. Ein weiteres Maß der Kurvenkomplexität ist die Summe der Absolutwerte der Winkel, die durch die Kurven begrenzt werden. Für die innere Krümmungswand 46 ist dieser Wert 360°, während dieser Wert 180° für die äußere Krümmungswand 48 ist. Die höhere Summe ist einer größeren Kurvenkomplexität zugeordnet. Der Unterschied der Komplexität zwischen der inneren Krümmungswand 46 und der äußeren Krümmungswand 48 ermöglicht es, daß die Längen der Krümmungswände beliebig nahe zueinander sind, so daß der Rennbahneffekt effektiv eliminiert werden kann.

Bei elektrophoretischen Systemen bezieht sich der Rennbahneffekt am direktesten auf die elektrische Feldgeometrie, und bezieht sich lediglich auf die Kanalgeometrie, sowie dieselbe die Feldgeometrie beeinflußt. Die Feldcharakteristika der Krümmung 30 sind in Fig. 4 gezeigt. In Fig. 4 erstrecken sich die Feldlinien 92 longitudinal entlang der Krümmung 30, während sich die Äquipotentiallinien 94 orthogonal zu den Feldlinien erstrecken. Innerhalb der Geraden 24 und 26 sind die Feldlinien 92 gleich beabstandet, gerade und parallel zu der longitudinalen Achse bzw. Längsachse der Geraden 24 und 26; die Äquipotentiallinien 94 sind ebenfalls entlang der Geraden 24 und 26 gleich beabstandet. Gemäß der geeigneten graphischen Konvention teilen die Feldlinien 92 und die Äquipotentiallinien 94 einen Kanal so nahe wie möglich in Quadrate. Innerhalb der Geraden sind die Quadrate echt, dieselben sind jedoch notwendigerweise innerhalb der Krümmungen schief.

In der stromaufwärts liegenden Ecke 42 (und ähnlicher-

weise in der stromabwärts liegenden Ecke 44) zwingt die Kanalverschmälerung die Feldlinien 92 näher zueinander. Da die Feldlinien 92 und die Äquipotentiallinien 94 Quadrate (so nah wie möglich) bilden sollen, sind die Äquipotentiallinien 94 notwendigerweise innerhalb der Ecke 42 näher zueinander als sie es in den Geraden 24 und 26 sind. Die Äquipotentiallinien 94 erstrecken sich an der Ecke 42 radial, so daß dieselben nahe der inneren Krümmungswand 46 näher zueinander sind als sie es nahe der äußeren Krümmungswand 48 sind. Die Feldlinien 92 müssen wiederum nahe der inneren Krümmungswand 46 näher sein als nahe der äußeren Krümmungswand 48, so daß die Quadrate an der Ecke 42 gebildet werden. Folglich erscheinen die Feldlinien 92 in Fig. 4 hin zu der inneren Krümmungswand 46 verschoben.

In dem mittleren Abschnitt 48 der Krümmung 30 zwischen den Ecken 42 und 44 sind die Wände 46 und 48 weiter voneinander entfernt als entweder an der Ecke 42 oder der Ecke 44, wie es in Fig. 4 gezeigt ist. Dementsprechend sind die Feldlinien 92 bezüglich des Kanals 10 weiter voneinander entfernt und zentrierter. Die Äquipotentiallinien 94 sind gleichzeitig weiter voneinander beabstandet. Es sei bemerkt, daß in diesem Zwischenabschnitt 48 die Äquipotentiallinien 94 nahe der inneren Krümmungswand 46 weiter voneinander entfernt sind als nahe der äußeren Krümmungswand 48. Diese Beziehung ist entgegengesetzt zu der Beziehung zwischen den Äquipotentiallinienbeabstandungen an den Ecken 42 und 44.

Der Einfluß der Feldcharakteristika, der in Fig. 4 gezeigt ist, auf das Trennungsverfahren ist in Fig. 5 gezeigt, die im wesentlichen eine Überlagerung von Fig. 4 mit den Details von Fig. 1 ist. Die Bandpositionen B01–B21 stellen den Fortschritt eines Probenkomponentenbands dar, sowie sich dasselbe durch die Krümmung 30 erstreckt. Die Bandposition B01 befindet sich in der stromaufwärts liegenden Geraden 24; durch die Geraden 24 und hinauf zu der Bandposition B01 behält das Probenkomponentenband eine optimale orthogonale Beziehung zu der Kanalrichtung.

Die Bandposition B02 erstreckt sich von dem 45°-Linksbogen 52 der inneren Krümmungswand 46 zu dem geraden Abschnitt 78 der äußeren Krümmungswand 48. (Die Wandabschnitte sind in Fig. 2 gezeigt, und die Bandpositionen sind in Fig. 5 gezeigt.) Das Band B02 liegt am Beginn der Krümmung 30 und behält folglich im wesentlichen die Ausrichtung der Bandposition B01 bei. Die Bandposition B02 ist jedoch leicht in Rechtsrichtung bezüglich der Orthogonalen zu der Kanalrichtung aufgrund des nicht gleichmäßigen elektrischen Felds, wie im folgenden erklärt, gekippt.

Der gebogene 45°-Linksabschnitt 52 der inneren Krümmungswand 46 dehnt sich gleichzeitig mit der Länge des geraden Abschnitts 78 der äußeren Krümmungswand 48 aus. Folglich sind über die Länge des gekrümmten Abschnitts 52 entsprechende Punkte der inneren Krümmungswand 46 weiter voneinander entfernt als ihre Gegenstücke auf der äußeren Krümmungswand. Dementsprechend liegen die Äquipotentiallinien, die die Bandposition B02 schneiden, nahe der äußeren Krümmungswand 48 näher zueinander als nahe der inneren Krümmungswand 46.

Der Abstand zwischen den Äquipotentiallinien ist mit dem elektrischen Feldgradienten umgekehrt korreliert. Bei dem Fall der Bandposition B02 ist der Feldgradient bei einem äußeren Band 96 nahe der äußeren Krümmungswand 48 stärker als bei einer inneren Bahn 98 nahe der inneren Krümmungswand 46. Folglich wandern Moleküle an der Bandposition B02 in den äußeren Bahnen schneller als die Moleküle in der gleichen Bandposition auf der inneren Bahn 98. Dies liegt daran, daß die Bandposition B02 leicht rechts "gekippt" ist, wobei der äußere Abschnitt den inneren Abschnitt anführt.

Wie es für die Bandpositionen B02, B03 und B04 gezeigt ist, erhöht sich die Rechtsverkippung, sowie ein Band von dem Beginn des Linksbogens 52 zu dem Biegungspunkt 54 forschreitet. Die Bandposition B04 erstreckt sich von dem Biegungspunkt 54 (Fig. 2), und folglich von dem Beginn des gebogenen Rechtsabschnitts 56 der inneren Krümmungswand 46 zu dem Beginn des gebogenen Rechtsabschnitts 80 der äußeren Krümmungswand 48. Bei der Bandposition B04 endet die Rechtsverkippung. Wie im folgenden erklärt ist die akkumulierte Rechtsverkippung eine Vorkompensations- bzw. Vorausgleichs-Verkippung.

Der gebogene Abschnitt 56 weist einen kleineren (halb so großen) Krümmungsradius als der gebogene Abschnitt 80 auf. Dementsprechend sind die Feldgradienten der inneren Bahn größer als die Feldgradienten der äußeren Bahn. Folglich werden die Bänder nach links relativ zu der Kanalrichtung gekippt, sowie dieselben entlang dieser gebogenen Abschnitte 56 und 80 forschreiten. Folglich kippt sich das Probenband nach links über die Bandpositionen B04–B08. Da jedoch der Kanal 10 sich nach rechts bei der Bandposition B04–B08 biegt, wird die absolute Ausrichtung eines Bands in den Positionen B04–B08 im wesentlichen beibehalten.

In besondere ist bei der Bandposition B06 auf der Hälfte entlang der gebogenen Abschnitte 56 und 80 ein Probenkomponentenband orthogonal zu dem Kanal 10 und 45° relativ zu der Geraden 24 ausgerichtet. Folglich ist auf halben Weg durch die Ecke 42 die Vorkompensationsverkippung, die durch die Bandpositionen B04 erreicht wird, verbraucht. Die Linksverkippung fährt fort, so daß die Nettoverkippungen der Bänder B07 und B08 forschreitend mehr links relativ zu einer Orthogonalen zu der Kanalrichtung liegen.

Die Bandposition B08 erstreckt sich von dem Beginn des geraden Abschnitts 82 der äußeren Krümmungswand zu dem Biegungspunkt 58 der inneren Krümmungswand, was der Beginn des links gebogenen Abschnitts 60 der inneren Krümmungswand 46 ist. Bei den Bandpositionen B08–B10 sind die Feldgradienten nahe den äußeren Bahnen größer. Dementsprechend tritt wiederum eine Rechtsverkippung auf. Diese Rechtsverkippung kompensiert die Nettolinksverkippung, die sich zwischen der Bandposition B06 und der Bandposition B08 ansammelt, so daß die Bandposition B13 optimal orthogonal zu dem Kanal 10 ausgerichtet ist.

Aufgrund der Symmetrien der Biegung 30 um den Mittelpunkt 40 und die Ecken 40 und 42 wiederholt der Fortschritt der Bandpositionen B11–B21 den Fortschritt der Bandpositionen B01–B11. Eine Vorkompensation tritt von der Bandposition B11 zu der Bandposition B14. Diese Vorkompensation wird von der Bandposition B14 zu der Mitteleckenbandposition B16 verbraucht. Eine Überkippung tritt von der Bandposition B16 zu der Bandposition B18 auf, und dies wird von der Bandposition B18 zu der Bandposition B21 nachkompensiert. Das Nettoresultat besteht darin, daß die Bandposition B21 ordnungsgemäß orthogonal zu dem Kanal 10 an dem Beginn der stromabwärts liegenden Geraden 26 ausgerichtet ist. Insgesamt bewirkt die Krümmung 30 eine 180°-Drehung der Probenbänder, während dieselbe bestenfalls eine vernachlässigbare Dispersion aufgrund eines Rennbahneffekts einführt.

Ein zweites Elektrophoresesystem AP2 gemäß der vorliegenden Erfindung ist in Fig. 6 gezeigt. Dasselbe ist im Prinzip ähnlich zu dem System AP1, es treten jedoch mehr Geraden 624, 626 und folglich mehr Krümmungen 630, 632 entlang des Kanals 610 desselben auf. Die größere Anzahl der Geraden ermöglicht es, daß eine Kanallänge von 41 Zentimetern (cm) auf einem Substrat von 24 Millimetern (mm) mal 13 mm erreicht wird. Die kleine Substratgröße ermöglicht einen niedrigen Herstellungsaufwand, während die relativ lange Kanallänge eine effektivere Komponententrenn-

nung vorsicht. Zusätzlich sind die Kanalenden 634 und 636 besser getrennt, um einen besseren Schutz vor einer Bogenbildung und anderen Effekten, die aufgrund der Nähe der Elektroden auftreten, bei sehr unterschiedlichen (z. B. 5 30.000 Volt) elektrischen Potentialen zu bieten.

Zur Erleichterung der Herstellung wird die Tiefe der Kanäle 10 konstant gehalten. Die Variation der Bandbreite, die detailliert in Fig. 1 und in Fig. 5 dargestellt ist, entspricht diesem Ausführungsbeispiel konstanter Tiefe von Fig. 6. Bei dem Fall des Ausführungsbeispiels AP1 mit variierender Tiefe bleibt die Breite der Bänder konstant. 10

Eine alternative Geometrie gemäß der vorliegenden Erfindung ist für eine Kanalkrümmung 730 in Fig. 7 gezeigt. In diesem Fall gibt es vier 45°-Ecken (anstelle von zwei 90°-Ecken) für eine 180°-Krümmung. Ein Vorteil dieser Krümmungsgeometrie besteht darin, daß die maximale Kanaleinschnürung reduziert werden kann, was das maximale Feld und die Flußbeschränkungen an den Ecken reduziert. Eine Referenzkurve 780 ist im Vergleich mit einer inneren Krümmungswand 746 und einer äußeren Krümmungswand 748 20 gezeigt.

Bei einem anderen Ausführungsbeispiel gibt es unterschiedliche Zahlen von Ecken in einer Krümmung. Minimal kann lediglich eine Einschnürung in der Krümmung vorhanden sein. Im einfachsten Fall kann die Einschnürung ohne 25 ein Biegen der inneren Wand gebildet sein. Bei einem bevorzugteren Ausführungsbeispiel mit einer einzigen Einschnürung wird jedoch die innere Wand gebogen, um den tatsächlichen Unterschied zwischen den Längen der inneren und der äußeren Wand zu reduzieren.

Die vorhergehenden Ausführungsbeispiele der Erfindung schneiden den Sachverhalt des Überheizens an den Hochfeldregionen nahe den gebogenen Verengungen an. Da die Verengungen jedoch (in der longitudinalen Richtung) kurz sind und sich die Probenkomponenten bewegen, ist die Zeit 30 zum Aufheizen begrenzt. Wärme die in einer Verengung erzeugt wird, kann in eine benachbarte tiefere Region abgeleitet werden.

Bei dem dargestellten Ausführungsbeispiel verbreitert sich der Kanal zwischen Ecken einer Krümmung. Bei alternativen Ausführungsbeispielen wird die volle Kanalbreite, die die Geraden charakterisiert, nicht zwischen gekrümmten Ecken erreicht. Beispielsweise kann der Kanal seine minimale Breite zwischen Ecken beibehalten. Bei den dargestellten Ausführungsbeispielen ist die maximale Breite 70 Mikrometer und die minimale Breite ist 35 Mikrometer. Die Erfindung sieht jedoch beliebige Kanalbreiten vor, wobei der praktischste Bereich zwischen 10 Mikrometern und 250 Mikrometern liegt. 40

Biegungen können bei Punkten auftreten, wie es für den Kanal 10 in den Fig. 1-6 der Fall ist. Die vorliegende Erfindung sieht jedoch vor, daß Kurven mit entgegengesetzten Richtungen ebenso durch Biegungssegmente getrennt werden. Bei dem dargestellten Ausführungsbeispiel sind die Kurven für eine leichtere Herstellbarkeit ferner Kreisbögen. 50 Andere Ausführungsbeispiele können Verbesserungen vorschreiben, indem der Krümmungsradius entlang der gebogenen Abschnitte variiert wird. Beispielsweise können die Radien variiert werden, so daß die Änderung des Krümmungsradius kontinuierlich variiert und bei Biegungspunkten nicht 55 springt.

Wie es durch einen Vergleich der System AP1 und AP2 gezeigt ist, kann die Kanaltiefe konstant sein oder dieselbe kann variiert werden. Der Kanal kann in unterschiedlichen Substratarten, wie z. B. Polyimid oder einem anderen di- 60 elektrischen Material, gebildet sein. Die Erfindung ist ferner auf rohrförmige Kanäle anwendbar, die verformt sind, um Verengungen in den Krümmungen zu erzeugen. 65

## Patentansprüche

1. Elektrophoretisches System (AP1; AP2), mit folgenden Merkmalen:

einem Elektrophoresekanal (10; 610) zum Trennen von Probenkomponenten longitudinal entlang desselben, wobei der Kanal (10; 610) eine stromaufwärts liegende Gerade (24; 624), eine stromabwärts liegende Gerade (26; 726) und eine Krümmung (30, 32; 630, 632; 730) aufweist, die sich von der stromaufwärts liegenden Geraden (24; 624) zu der stromabwärts liegenden Geraden (26; 726) erstreckt, wobei die Krümmung (30, 32; 630, 632; 730) eine innere Krümmungswand (46; 746), die sich von einem stromaufwärts liegenden inneren Endpunkt (50) zu einem stromabwärts liegenden inneren Endpunkt (74) erstreckt, aufweist, und wobei die Krümmung (30, 32; 630, 632; 730) eine äußere Krümmungswand (48; 748), die sich von einem stromaufwärts liegenden äußeren Endpunkt (76) zu einem stromabwärts liegenden äußeren Endpunkt (88) erstreckt, aufweist, wobei der stromaufwärts liegende innere Endpunkt (50) und der stromaufwärts liegende äußere Endpunkt (76) eine gemeinsame longitudinale stromaufwärts liegende Position aufweisen und quer zu dem Kanal (10; 610) durch eine Stromaufwärtsbreite beabstandet sind, und wobei der stromabwärts liegende innere Endpunkt (74) und der stromabwärts liegende äußere Endpunkt (88) eine gemeinsame longitudinale stromabwärts liegende Position aufweisen und quer zu dem Kanal (10; 610) durch eine Stromabwärtsbreite beabstandet sind, wobei der stromaufwärts liegende innere Endpunkt (50) und der stromabwärts liegende innere Endpunkt (74) näher zueinander liegen als der stromaufwärts liegende äußere Endpunkt (76) und der stromabwärts liegende äußere Endpunkt (88), wobei die innere Krümmungswand (46; 746) und die äußere Krümmungswand (48; 748) durch eine minimale Breite in einer longitudinalen Zwischenposition beabstandet sind, wobei die minimale Breite kleiner als die Stromaufwärtsbreite und kleiner als die Stromabwärtsbreite ist.

2. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß Anspruch 1, bei dem die minimale Breite zwischen einem Viertel und drei Viertel der Stromabwärtsbreite und der Stromaufwärtsbreite beträgt.

3. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem die innere Krümmungswand (46; 746) eine Länge der inneren Krümmungswand aufweist, die größer als eine Referenzlänge einer Kurve (90; 780) ist, die sich so parallel wie möglich zu der äußeren Krümmungswand (48; 748) und von dem stromaufwärts liegenden inneren Endpunkt (50) zu dem stromabwärts liegenden inneren Endpunkt (74) erstreckt.

4. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß Anspruch 3, bei dem die äußere Krümmungswand (48; 748) eine Länge der äußeren Krümmungswand aufweist, wobei der Kanal (10; 610) einen tatsächlichen Unterschied aufweist, der gleich der Länge der äußeren Krümmungswand minus der Länge der inneren Krümmungswand ist, wobei der Kanal (10; 710) einen Referenzunterschied definiert, der gleich der Länge der äußeren Krümmungswand minus der Referenzlänge ist, wobei der tatsächliche Unterschied kleiner als der Referenzunterschied ist.

5. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß Anspruch 4, bei dem der tatsächliche Unterschied kleiner als die Hälfte des Referenzunterschieds ist.

6. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, bei dem die innere Krümmungswand (46; 746) mindestens eine Kurvenbiegung aufweist.

7. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß Anspruch 6, bei dem die innere Krümmungswand (46; 746) mehr Kurvenbiegungen als die äußere Krümmungswand (48; 748) aufweist.

8. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß Anspruch 6 oder 7, bei dem die innere Krümmungswand (46; 746) mindestens zwei Krümmungsbiegungen aufweist, und die äußere Krümmungswand (48; 748) keine Kurvenbiegungen aufweist.

9. Elektrophoretisches System (AP1; AP2) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, das ferner eine Leistungsversorgung (12) zum Liefern eines elektrischen Felds (92) aufweist, das sich longitudinal entlang des Kanals (10; 610) erstreckt.

---

Hierzu 6 Seite(n) Zeichnungen

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**- Leerseite -**

FIG. 1

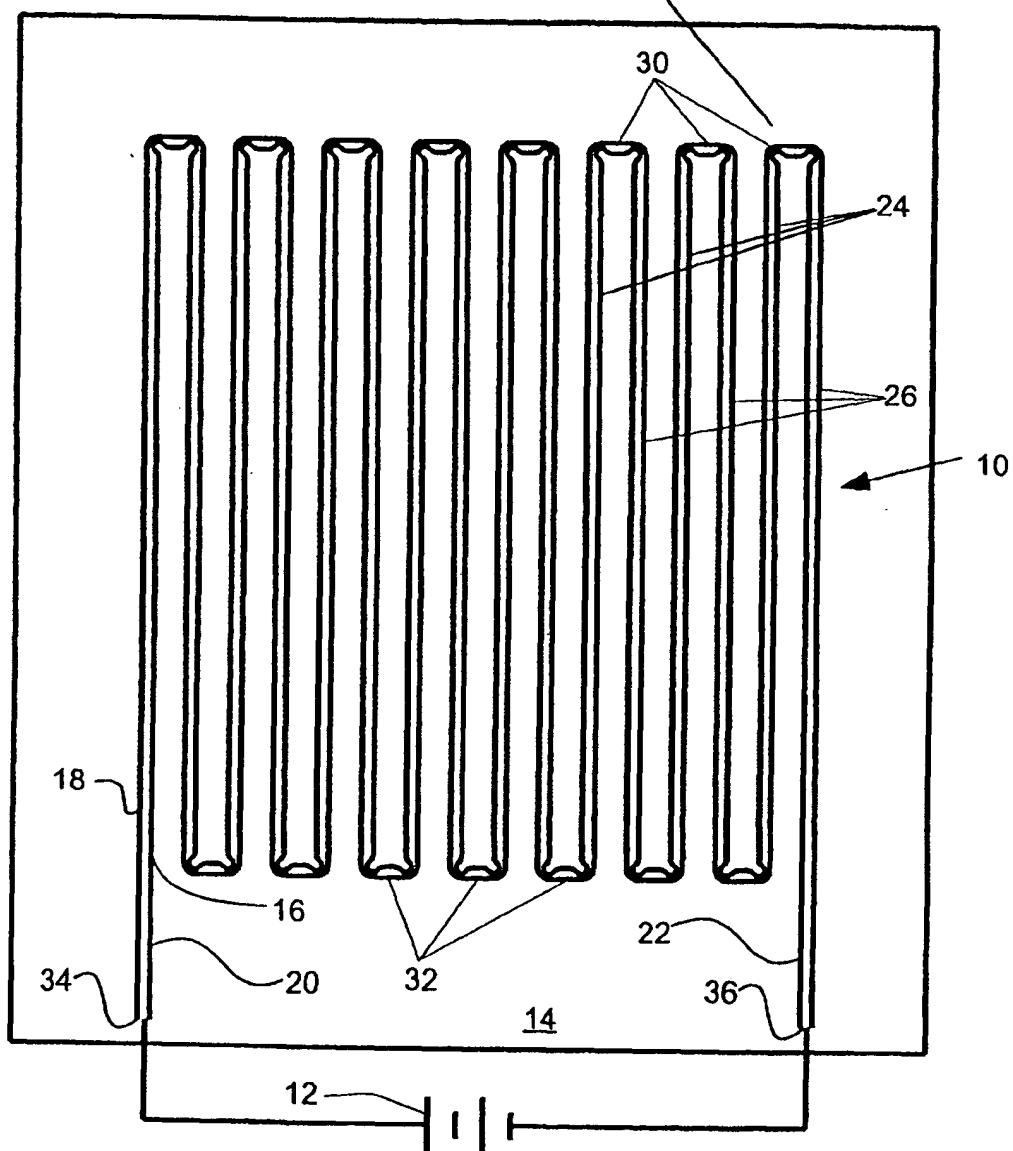
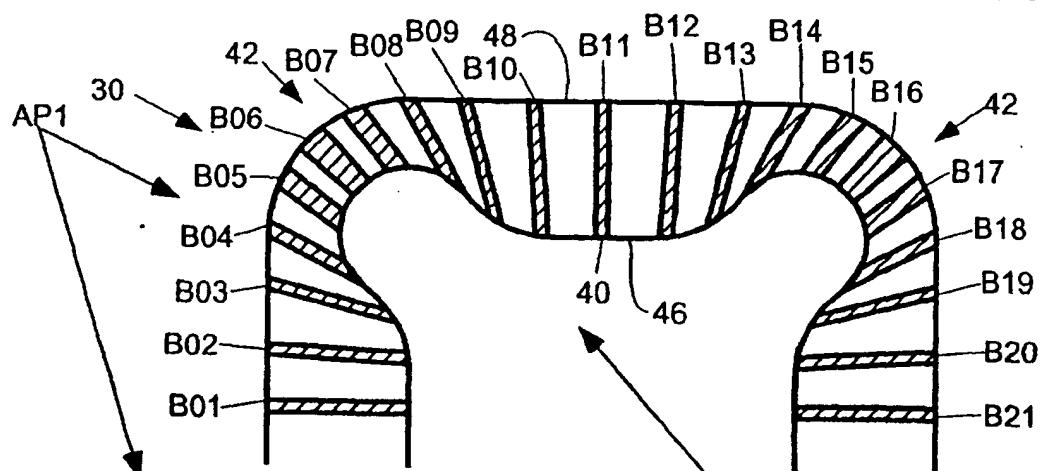


FIG. 2

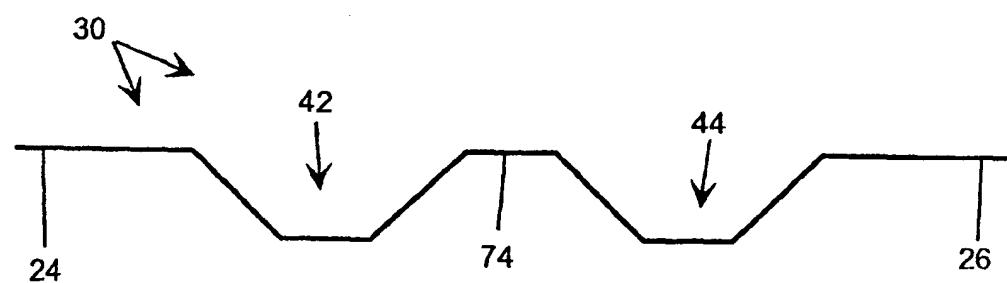
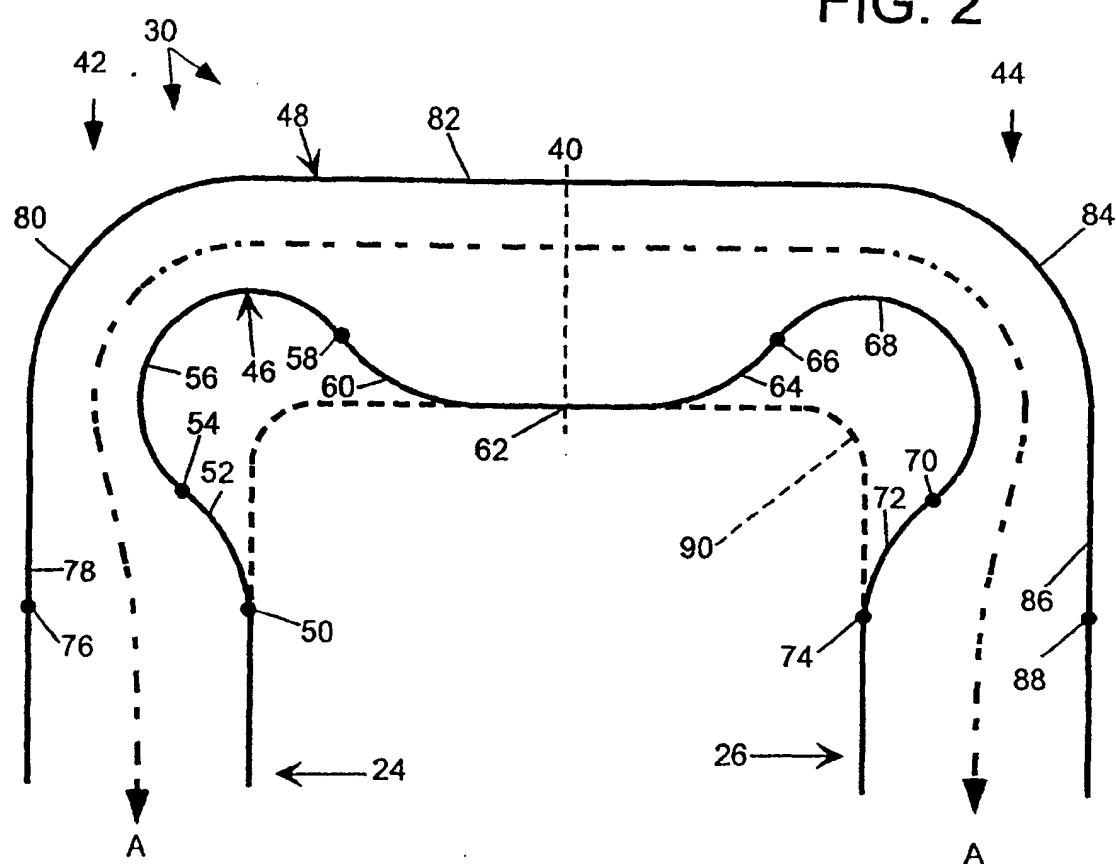


FIG. 3

**FIG. 4**

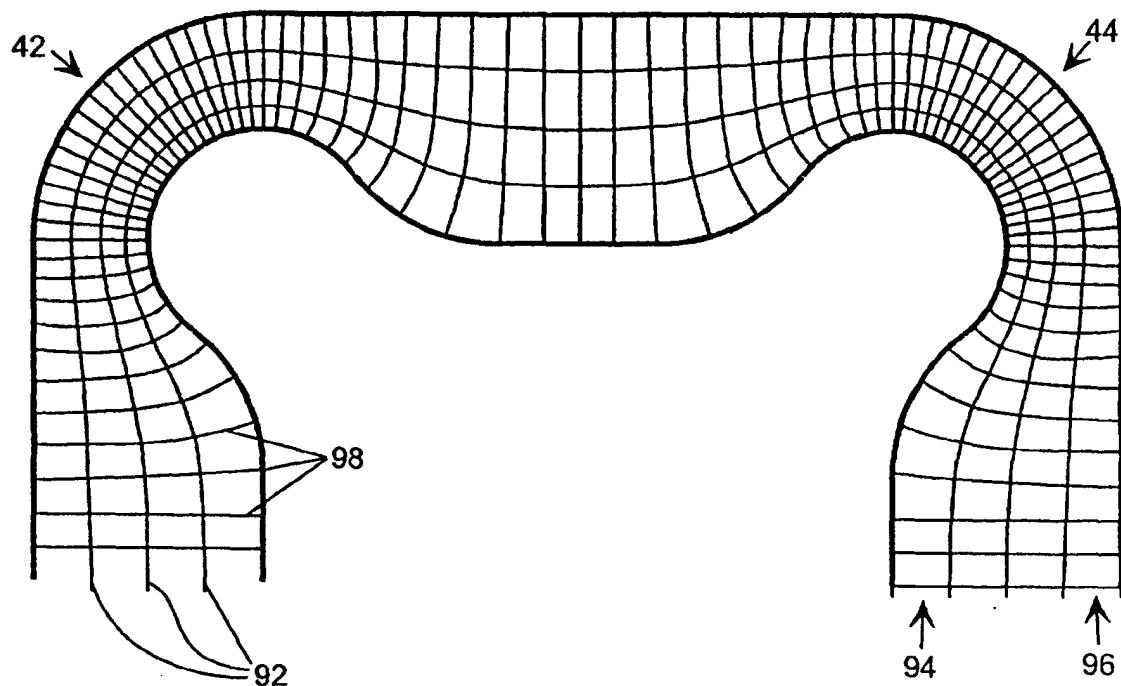
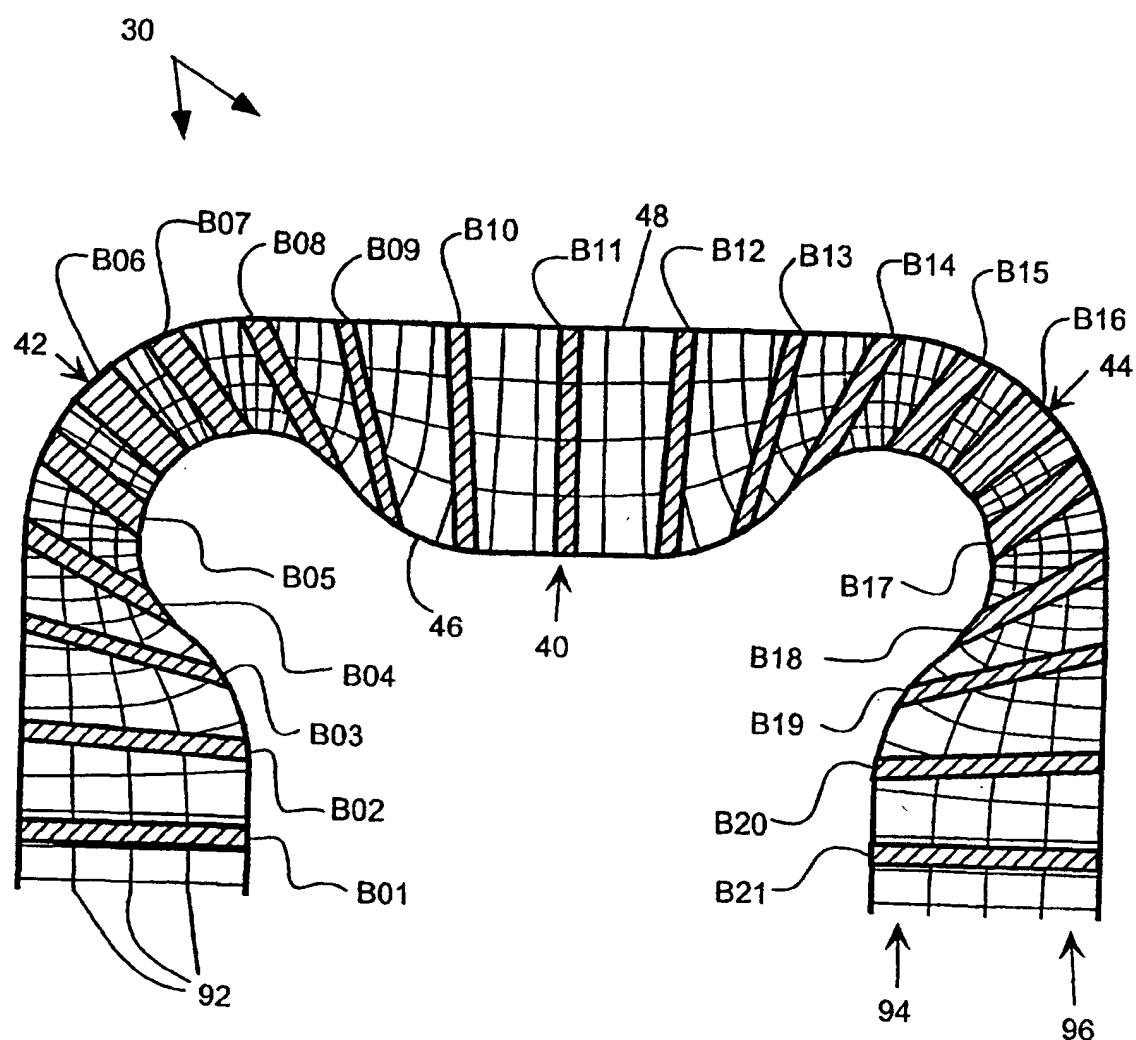


FIG. 5



AP2

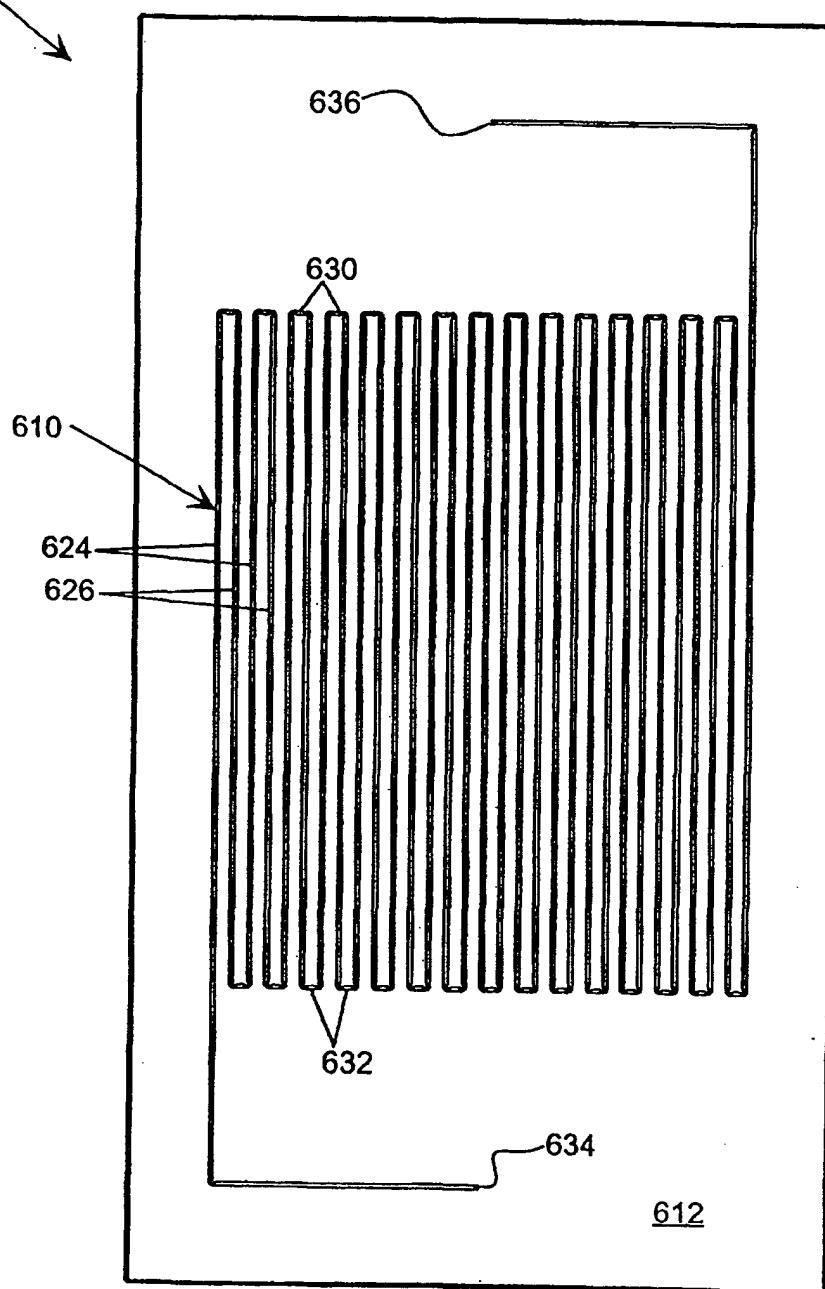


FIG. 6

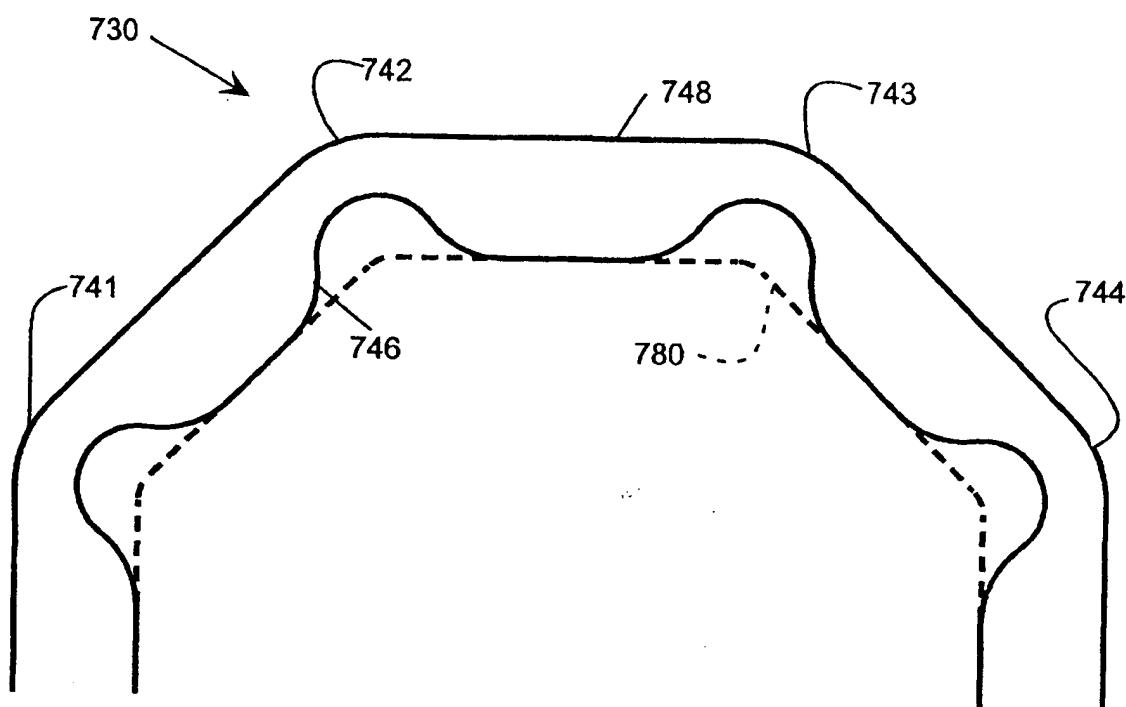


FIG. 7